

検定とスチューデントの t 検定を用いた。

### C. 研究結果

HVJ-E、HVJ-E/IL-2 いずれも *in vitro* で ISOS-1 の増殖を抑制しなかった。*In vivo* において HVJ-E の局所注射は血管肉腫の増殖を抑制したが、HVJ-E/IL-2 投与ではさらに抑制し、腫瘍の消失率 (37.5%) が改善し、生存期間が有意に延長した。HVJ-E により TILs における CD8(+)T 細胞、NK 細胞は、増加し、所属リンパ節における Tregs は減少した。この効果は IL-2 の有無で変化しなかった。HVJ-E により脾臓の MDSCs は増加したが、HVJ-E/IL-2 では増加はなかった。HVJ-E 投与群の CD8(+)T 細胞は、*ex vivo* で、HVJ-E を癒合させた ISOS-1 (ISOS-1/HVJ-E) に対して IFN $\gamma$  産生が増加した。一方、HVJ-E/IL-2 投与群の CD8(+)T 細胞は、ISOS-1/HVJ-E だけでなく、ISOS-1 に対しても IFN $\gamma$  産生が著明に増加した。

HVJ-E、HVJ-E/IL-2 投与群の CD8(+)T 細胞の細胞障害活性は、ISOS-1/HVJ-E に対して軽度増強した。一方、NK 細胞では ISOS-1 に対する細胞障害活性が増強した。加えて ISOS-1/HVJ-E に対しては HVJ-E に比べ HVJ-E/IL-2 投与群の NK 細胞はより細胞障害活性が増強される傾向にあった。HVJ-E や HVJ-E/IL-2 投与により誘導される免疫反応は ISOS-1/HVJ-E に対してより強く認められたことから、ISOS-1 そのものに対する全身性の抗腫瘍免疫が形成されたかどうかを検討した。HVJ-E/IL-2 投与により腫瘍が消失したマウスの項部皮下に ISOS-1 を移植し、無治療で 57% に腫瘍を形成しなかった。これらのマウスの脾細胞を、放射線照射したナイーブマウスに経静脈的に移入したのち、ISOS-1 を移植したところ、すべてのマウスで腫瘍を形成しなかった。

スニチニブは *in vitro* で ISOS-1 の増殖を用量依存性に抑制し、*in vivo* においても腫瘍の増殖を抑制した。スニチニブと HVJ-E/IL-2 の併用 (HVJ-E/IL-2/sunitinib) は著明な腫瘍増大抑制効果を示し、腫瘍消失率は 75% であった。スニチニブ投与での TILs における CD8(+)T 細胞、NK 細胞の減少、リンパ節での Treg 上昇は、HVJ-E/IL-2 により相殺された。スニチニブ投与群では MDSCs の減少傾向が見られ HVJ-E/IL-2/sunitinib では有意に減少した。

HVJ-E は CD8(+)T 細胞と NK 細胞の腫瘍への集積を促進し、所属リンパ節の Tregs を減少させた。これらの結果は CT26 マウス大腸癌細胞、Renca 腎細胞癌での結果と一致している。CD8(+)T 細胞ではなく、NK 細胞の ISOS-1 に対する細胞障害活性は HVJ-E により促進された。IL-2 遺伝子を併用することによって CD8(+)T 細胞の細胞障害活性は変化しなかったが、IFN $\gamma$  産生は著明に増強され、CD8(+)T 細胞と NK 細胞の ISOS-1/HVJ-E に対する細胞障害活性は増強される傾向があった。

MDSCs は T 細胞の反応抑制に重要な役割を果たすことが知られており、このことが少なくとも部分的には悪性腫瘍に対する免疫治療の効果の限界を説明すると思われる。HVJ-E 投与では *in vivo* での腫瘍増大抑制にもかかわらず、MDSCs は増加するが、これは HVJ-E がウイルス抗原として認識されることによるかもしれない。IL-2 遺伝子の併用によりこの MDSC 増加が抑制されることが HVJ-E/IL-2 治療の HVJ-E 単独治療に勝る重要な利点かもしれない。

これまでの研究で局所のサイトカイン特性、すなわち、Th2 型反応へのシフトは MDSCs 数を増加し、Th1 サイトカインの多い微小環境では、IL-2 や IFN $\gamma$  が、MDSC を阻害することが分かっている。我々の研究では、HVJ-E/IL-2 の局所注射による CD8(+)T 細胞からの IFN $\gamma$  産生増加と IL-2 産生が HVJ-E/IL-2 投与マウスでの MDSCs 抑制を説明するかもしれない。

HVJ-E/IL-2 投与マウス全体の 37.5% で腫瘍が完全に消失し、ISOS-1 に対する長期にわたる全身性の免疫を誘導した。HVJ-E 治療に対し HVJ-E/IL-2 治療の優位な効果を MDSCs の違いだけで完全に説明することは出来ないが、これらのデータは HVJ-E/IL-2 治療がより効果的に局所再発や遠隔転移のリスクを減らすことを強く示唆する。

スニチニブと HVJ-E/IL-2 の併用により、腫瘍の増殖阻害が促進され、腫瘍消失率が増加した。スニチニブ単独では CD8(+)T 細胞、NK 細胞の集積が阻害されたが、これらは HVJ-E/IL-2 併用により回復し、MDSCs の減少効果はより顕著となった。スニチニブは HVJ-E/IL-2 の治療効果を減じることはなく、MDSCs 減少と腫瘍への直接阻害によって抗腫瘍効果を促進した。

### D. 結論

HVJ-E/IL-2 による免疫治療は単独療法、またはスニチニブとの併用療法で皮膚血管肉腫に対して有望な治療選択肢となり得る。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

- 1) Satoh T, Ikeda H, Yokozeiki H. Acrosyringeal Involvement of Palmoplantar Lesions of Eosinophilic Pustular Folliculitis. *Acta Derm Venereol.* 10;93(1). 2013.
- 2) Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeiki H., Sasaki S, Uchida S. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. *J Dermatol.* 70(1):26-33. 2013.
- 3) Fujimoto T, Kawahara K, Yokozeiki H. Epidemiological study and considerations of primary focal hyperhidrosis in Japan: From questionnaire analysis. *J Dermatol.* 40(11) 886-890. 2013.
- 4) Sakaguchi M, Bito T, Oda Y, Kikusawa A, Nishigori C, Munetsugu T, Yokozeiki H., Itotani Y, Niguma T, Tsuruta D, Tateishi C, Ishii N, Koga H, Hashimoto T. Three Cases of Linear IgA/IgG Bullous Dermatoses Showing IgA and IgG Reactivity With Multiple Antigens, Particularly Laminin-332. *JAMA Dermatol.* 2013 Nov 1;149(11):1308-13.
- 5) Otakehara Y, Satoh T, Nishizawa A, Saeki K, Nakamura M, Masuzawa M, Kaneda Y, Katayama I, Yokozeiki H. Anti-tumor effects of inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene on angiosarcoma. *Clin Immunol.* 2013 Oct;149(1):1-10.
- 6) Higuchi T, Satoh T, Yokozeiki H. Using CD40 Ligand Expression to Detect Antigen-specific T Cells in Patients with Drug Eruptions. *Acta Derm Venereol.* 2013 May 27
- 7) Saeki K, Satoh T, Yokozeiki H.  $\alpha$  (1,3) Fucosyltransferases IV and VII are essential for the initial recruitment of basophils in chronic allergic inflammation. *J Invest Dermatol.* 2013 Sep;133(9):2161-9.
- 8) Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeiki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2 : therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis. *Immunology.* 2013 Sep;140(1):78-86.
- 9) Okiyama N, Sugihara T, Oida T, Ohata J, Yokozeiki H., Miyasaka N, Kohsaka H. T lymphocytes and muscle condition act like seeds and soil in a murine polymyositis model. *Arthritis Rheum.* 64(11): 3741-9. 2012.
- 10) Sekine R, Satoh T, Takaoka A, Saeki K, Yokozeiki H. Anti-pruritic effects of topical crotamiton, capsaicin, and a corticosteroid on pruritogen-induced scratching behavior. *Exp Dermatol* 21: 201-204. 2012.
- 11) Kanai Y, Satoh T, Igawa K, Yokozeiki H. Impaired expression of Tim-3 on Th17 and Th1 cells in psoriasis. *Acta Derm-Venereol* 92: 367-371. 2012.
- 12) Kishi Y, Higuchi T, Phoon S, Sakamaki Y, Kamiya K, Riemekasten G, Akiyoshi K, Weigert MG, Tsubata T. Apoptotic marginal zone deletion of anti-Sm/ribonucleoprotein B cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 May 15;109(20):7811-6. doi: 10.1073/pnas.1204509109. Epub 2012 Apr 30.
- 13) Matsushima Y, Satoh T, Yamamoto Y, Nakamura M, Yokozeiki H. Distinct roles of prostaglandin D2 receptors in chronic skin inflammation. *Mol Immunol.* 2011 304-310.
- 14) Ugajin T., Satoh T, Kanamori T, Aritake K, Urade Y, Yokozeiki H. Fc  $\epsilon$  RI, but

not Fc $\gamma$ R, signals induce prostaglandin D2 and E2 production from basophils. *Am J Pathol*. 2011 179:775-82. 2011.

- 15) Yamamoto Y, Otani S, Hirai H, Nagata K, Aritake K, Urade Y, Narumiya S, Yokozecki H, Nakamura M, Satoh T. Dual functions of prostaglandin D2 in murine contact hypersensitivity via DP and CRTH2. *Am J Pathol* 179:302-14. 2011
- (2) 学会発表
  - 1) IGAWA K., HORIE K., YUSA K., YOKOZEKI H., KATAYAMA I., TAKEDA. J.: Efficient keratinocytes differentiation from transgene-free human induced pluripotent stem cell line: Implication for therapeutic application. International Investigative Dermatology. 8th - 11th May 2013, Edinburgh, Scotland
  - 2) IGAWA K.: Efficient keratinocytes differentiation from transgene-free human induced pluripotent stem cell line: Implication for therapeutic application. 第8回箱根カンファレンス 2013年8月24、25日 淡路島。(招待講演)
  - 3) Saeki K., Satoh T., Yokozecki H. : Basophils require interaction with CD49b(+)/c-kit(+) cells through L-selectin for induction of immunoglobulin E-mediated chronic allergic inflammation. 第42回日本免疫学会学術集会. 2013.12.11. 千葉。(一般演題)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

## マウス血管肉腫モデルにおけるHVJ-Eの治療効果

研究分担者 佐藤貴浩 防衛医科大学校皮膚科学講座 教授  
竹原友貴 大阪大学大学院医学研究科皮膚科学教室  
横関博雄 東京医科歯科大学大学院皮膚科学分野 教授

### 研究要旨

#### A. 研究目的

血管肉腫は皮膚悪性腫瘍の中でも最も予後の悪い悪性腫瘍の一つである。現在では手術療法にかわって放射線療法とタキサン系抗腫瘍薬剤による治療が主流になっており、ある程度の延命効果はみられている。しかし満足のいく治療効果がえられることは非常にすくない。本研究ではHVJ-Eによる血管肉腫の新規治療法開発を目的として、マウス血管肉腫モデルにおける腫瘍抑制効果を検討した。

#### B. 研究方法

BALB/c マウス背部皮下にマウス血管肉腫細胞株 ISOS-1 を移入し(day 0)、血管肉腫モデルを作成した。腫瘍増大後にHVJ-Eを腫瘍内に3回にわけて(days 12, 16, 20)局所投与し、腫瘍径の変化を測定した。

#### C. 研究結果

HVJ-Eの局所投与によって腫瘍の増殖は有意に抑制された。マウスの生存率については上昇する傾向がみられたものの有意な差はえられなかった。ヒト血管肉腫では過去にIL-2投与がある程度有効であることが示されているため、IL-2遺伝子を導入したHVJ-Eの治療効果をあわせて検討した。その結果、HVJ-E/IL-2はHVJ-E単独よりも

強い腫瘍抑制効果を発揮し、またマウス生存率も有意に上昇した。

#### D. 考察

血管肉腫の新規治療方法としてHVJ-Eの局所投与に期待がもてることが示された。特にIL-2遺伝子を導入することでその効果はより増大することがわかった。今後、この現象の具体的な機序につき検討を加えていく予定である。

#### E. 結論

HVJ-Eの局所投与はマウス血管肉腫モデルにおいて腫瘍抑制効果を発揮する。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G 研究発表

##### 1. 論文発表

Satoh T, Ikeda H, Yokozeki H. Acrosyringeal involvement of palmoplantar lesions of eosinophilic pustular folliculitis. Acta Derm Venereol 93: 99, 2013.

Nishizawa A, Satoh T, Yokozeki H. Close association between metal allergy and nail lichen planus: detection of causative metals in nail lesions. J Eur Acad Derm Venereol 27: 231-234, 2013

Furue M, Ebata T, Ikoma A, Takeuchi S, Kataoka Y, Takamori K, Satoh T, Saeki H, Augustin M, Reich A, Szepietowski J, Fleischer A, Blome C, Phan N-Q, Weisshaar E, Yosipovitch G, Staonder S. Verbalizing extremes of the visual analogue scale for pruritus- a consensus statement-. *Acta Derm-Venereol* 93: 214-215, 2013.

Takahashi E, Yokozeki H, Satoh T. Atrophic fibrous hamartoma of infancy with epidermal and adnexal changes. *J Dermatol* 40: 212-214, 2013.

Kato K, Satoh T, Tanaka-Fujimoto T, Ueda N, Yokozeki H. IgG4-positive cells in skin lesions of cutaneous and systemic plasmacytosis. *Eur J Dermatol* 23: 255-256, 2013).

Kataoka N, Satoh T, Hirai A, Saeki K, Yokozeki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2: therapeutic potential of CRTH2 desensitization for eosinophilic pustular folliculitis. *Immunology* 140: 78-86, 2013.

Inoue R, Sohara E, Rai T, Satoh T, Yokozeki H, Sasaki S, Uchida S. Immunolocalization and translocation of aquaporin-5 water channel in sweat glands. *J Dermatol Sci* 70: 26-33, 2013.

Saeki K, Satoh T, Yokozeki H.  $\alpha(1,3)$  fucosyltransferases-IV and VII are essential for initial recruitment of basophils in chronic allergic inflammation. *J Invest Dermatol* 133: 2161-2169, 2013.

Maeda M, Fujimoto N, Satoh T. Bilateral lymphedema associated with nephrotic syndrome. *Eur J Dermatol* 23: 739-740, 2013.

## 2. 学会発表

Hashimoto T, Satoh T, Yokozeki H. Inhibition of STAT6 signals exacerbates IgE-mediated, basophil-dependent prurigo-like reactions. *International Investigative Dermatology* 2013. Edinburgh, 11, May 2013.

Hirai A, Kataoka N, Satoh T, Yokozeki H. Indomethacin inhibits eosinophil migration to prostaglandin D2: Proposal of a mechanism of action for eosinophilic pustular folliculitis. *International Investigative Dermatology* 2013. Edinburgh, 10, May 2013.

(教育講演)

佐藤貴浩：後天性特発性全身性無汗症ガイドライン 第112回日本皮膚科学会総会 横浜 6月14日, 2013

佐藤貴浩：好塩基球と皮膚炎症 第3回 Saitama Allergy Workshop (川越) 7月11日, 2013

佐藤貴浩 : Pathological etiology and  
therapeutic approaches for prurigo

Invited lecture 国際かゆみシンポジウム

大阪市 10月26日, 2013

H : 知的財産権の出願・登録状況

なし

ヒト悪性黒色腫細胞株に発現する活性型STAT3発現性と  
細胞死減弱作用との関係についての解析

研究分担者：柴垣直孝 山梨大学大学院医学工学総合研究部 皮膚科准教授

研究要旨

皮膚悪性黒色腫に発現する活性型 STAT3 の発現は、免疫誘導型癌治療法による抗腫瘍効果を著しく減弱させることが示唆された。従って、癌検体の pSTAT3 の発現性を検討することは、抗腫瘍効果を予測する上で重要である。

A. 研究目的

悪性黒色腫をはじめとする癌細胞は悪性度が高くなる程、STAT3 が恒常的に活性化され周囲の免疫担当細胞に負の影響を与えることを、いくつかのマウスモデルを用いて検討してきた。これは、癌細胞自身が pSTAT3 依存性サイトカインである IL-6/IL-10 を産生することで、癌塊微小環境に浸潤する T 細胞に対し、IFN-gamma 産生 T 細胞への分化誘導を強力に阻害するためにおこる現象である。そこで我々は当施設にある、10 種類のヒト悪性黒色腫細胞株を用いて活性型 STAT3 (pSTAT3) の発現性を検討すると共に、その下流に存在する IL-6, IL-10 の産生の有無も検討することとした。

B. 研究方法

現在、当教室にヒト型悪性黒色腫細胞株が 10 種類あり、これら細胞株の pSTAT3 の発現性を、抗 pSTAT3 抗体による免疫染色、解析法は顕微鏡、FACS 解析、ELISA 法を用いて総合的に行った。

C. 研究結果

現在の所、細胞内の pSTAT3 の発現を解析する方法としては、pSTAT3 抗体を用いた蛍光染色法、蛍光顕微鏡による観察法が最も信頼性が高い。また、pSTAT3 の細胞内での（核内）局在性も解析しやすい。一方、

FACS 法は感度が著しく低いことが判明した。従って、ヒトの癌検体における pSTAT3 の発現解析には切片を抗 pSTAT3 抗体を用いて蛍光染色し、顕微鏡にて解析する方法が最も相応しいことが示唆された。

D. 考察

今後、癌細胞の核内に発現する pSTAT3 と IL-6/IL-10 の発現の相関性について更なる解析を行うと共に、実際のヒト癌検体での発現性を検討してゆく。また、現在我々が作製した、ヒト型 pSTAT3 特異阻害薬（分子標的薬）の抗腫瘍効果についても in vitro での検討から行ってゆく。

E. 結論

悪性黒色腫をはじめとする癌細胞に発現する pSTAT3 は、担癌宿主の癌微小環境、特に免疫細胞に多大な影響を与えることで抗腫瘍効果を減弱させることが示唆されるため、進行期癌患者の癌検体での pSTAT3 発現を検討する事は、抗腫瘍効果を推測する上で重要であることが示唆される。

F. 健康危険情報

なし。

G 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## IV. 班會議事錄



厚生労働科学研究費補助金「平成 24 年度難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業  
(がん関係研究分野)」

課題名：癌特異的アポトーシスを誘導する革新的分子標的薬による難治性皮膚癌に対する治療薬の医師主導臨床治験による実用化開発 (24280301)

## 第 2 回班会議 議事録

日 時：2013 年 11 月 15 日 15:00~17:00

場 所：ホテルエクスポパーク 本館 3 階 水鳥

参加者 (敬称略・五十音順)：甘利 裕邦；荒木 富子；伊藤 和之；上島 暁世；片山一朗；清原 祥夫；斎藤 勝久；桜井 敏晴；杉山 大介；高橋 英至；種村 篤；坪井 謙之介；中島 英貴；中島 俊洋；濱口 真英；平山 滋之；水野 里紗；山崎 直也；横関 博雄；Anand K Ganesan；Dave S. Hoon

議事内容：

### 1. 開催のあいさつ(片山)

本医師主導治験の準備が進んでおります。本日は、種村より治験の進捗をご報告した後、治験の実施についてディスカッションいただきたい。

### 2. 治験実施計画等の概要の説明(種村)

#### 1). 本治験の背景について

- 臨床研究では、HVJ-E の安全性/忍容性の確認を主目的とし対象患者 6 例 (低用量群、高用量群各 3 例) に対して低用量群 3,000mNAU、高用量群 10,000mNAU を週 3 回投与を、2 週間行い、4 週間の休薬を 1Cycle とし、2Cycle 実施した。1 例目の被験者で 1 番から 5 番までナンバリングした皮膚病変を観察したところ、局所投与した 3 か所の皮膚病変は約 3 回投与で消失した。また、局所投与していない 5 番の皮膚病変に関しても、周囲に脱色素斑を残す形で消失した。

上記臨床研究を経て、本治験では臨床研究の投与量 3 倍の低用量群 30,000mNAU (容量 1mL)、高用量群 60,000mNAU (容量 2mL) で行う。

また、本治験は阪大治験審査委員会の承認を得た後、早くも 2014 年 1 月 (遅くとも 2014 年 2 月) に治験をスタートし、2014 年 12 月までの期間で実施する。非常にタイトなスケジュールとなるため、ご協力をお願いしたい。

#### 2). 治験実施計画書の概要について

課題名：進行性悪性黒色腫患者を対象とした GEN0101 腫瘍内局所投与による安全性/忍容性及び予備的な有効性検討のためのオープンラベル用量漸増試験

試験の相：第 I 相

対象疾患：再発、標準治療抵抗性、標準治療が適用されない又は標準治療を拒否した

Stage III C 又は Stage IV の進行性悪性黒色腫患者

目標症例数：3～15 例

本治験の目的：主目的：安全性/忍容性の検討

副次目的：予備的な有効性の検討

1. 腫瘍縮小効果
  - ・ 全体的な応答による腫瘍増殖抑制の評価（RECIST 評価）
  - ・ 病巣別腫瘍縮小評価
2. 腫瘍免疫誘導
  - ・ NK 細胞活性
  - ・ IL-6
  - ・ IFN- $\gamma$

投与量：低用量群（1 日投与量 30,000mNAU）、高用量群（1 日投与量 60,000mNAU）

試験方法：GEN0101 を隔日以上で週 3 回投与を 2 週間行い、2 週間休薬する。この治療を 1Cycle とし、2Cycle 行う。各 Cycle の投与期間については、原則として、入院対応とし、休薬期間は外来対応可能とする。

※赤字で示した選択・除外基準について重点を絞って説明が行われた。

選択基準：

1. 治験参加に本人の自由意思による文書同意が得られた患者。
2. 年齢 20 歳以上 86 歳未満であること。
3. 組織診又は細胞診にて悪性黒色腫であることが確認されていること。
4. 再発、標準治療抵抗性、標準治療が適用されない又は標準治療を拒否した Stage III C 又は Stage IV の進行性悪性黒色腫患者と診断されていること。
5. 3 か所以上の測定可能な 3 mm 以上の表在性評価可能皮膚病変を有し、その総和が 10 mm 以上であること。
6. 治験薬投与開始予定日後 8 週間以上の生存が期待できること。
7. ECOG の Performance Status が 0～2 であること。
8. スクリーニング時に以下のとおり、骨髄機能、肝機能及び腎機能が保たれていること。
  - ・ 白血球：2,000 / $\mu$ L 以上
  - ・ 血小板：75,000 / $\mu$ L 以上
  - ・ ヘモグロビン：8.0 g/dL 以上
  - ・ AST：施設基準値上限の 2.5 倍以下
  - ・ ALT：施設基準値上限の 2.5 倍以下
  - ・ 総ビリルビン：施設基準値上限の 2 倍以下

・ 血清クレアチニン：施設基準値上限の2倍以下

除外基準：

1. 多発性脳転移を有する場合。
  2. GEN0101によるプリックテスト陽性の場合。
  3. コントロールされていない活動性感染症など、重篤な併発疾患がある場合。
  4. 同意取得前4週間以内（ニトロソウレア又はマイトマイシンCを使用の場合は6週間以内）に全身性抗がん療法、放射線療法又はIFN-β局所療法が行われている場合。
  5. 同意取得前4週間以内に未承認薬の投与を行った場合。
  6. 悪性黒色腫以外の悪性腫瘍歴。ただし、同意取得時に5年以上再発及び転移していない場合はこの限りでない。
  7. 活動性の自己免疫疾患がある場合。
  8. 副腎皮質ステロイドの全身投与又は免疫抑制剤の全身投与が行われている場合。ただし、低用量（経口プレドニゾンとして10 mg/day以下相当）を長期投与（6か月超）している場合は、この限りでない。
  9. 妊娠又は授乳中の女性。授乳を中止する場合はこの限りでない。なお、女性の場合、β-HCG検査を実施し、妊娠の有無を確認する。
  10. 追跡上及び治験実施計画書遵守上、問題となる精神疾患を有する場合。
  11. 自家又は同種臓器、組織移植歴がある場合（免疫抑制剤の投与を受けている場合）。
  12. スクリーニング時のPT、APTTが施設基準値上限の1.5倍以上の場合。
  13. スクリーニング時のHBe抗原、HCV抗体、HIV1,2抗体検査のうちいずれかが陽性であった場合。
  14. その他、治験責任（分担）医師が不適切と判断した場合。
- 3). 治験薬の投与方法について
- 皮膚の腫瘍病変1か所あたり低用量群 10,000mNAU(容量1 mL)、高用量群 20,000 mNAU(容量2 mL)を投与する。予め標的病変として設定した3か所の皮膚の腫瘍病変及びその周辺部位に投与し、投与期間中、可能な限り投与病変及びその投与量の変更は行わない。
- なお、治験薬を投与した皮膚病変が病巣別腫瘍縮小効果評価において局CRとなった場合、その他の皮膚病変への投与を行うことが出来るが、投与箇所は3か所とし、1か所あたりの投与量の変更は行わない。
- 投与は原則として27Gの注射針を用いて行い、投与する腫瘍を3次的にカバーするよう薬液を注入する。なお、投与前に必要なに応じて局所麻酔剤を腫瘍周辺に投与する。悪性黒色腫の場合、注射針を頻回抜き差しする反復注入は播種リスクを増大させる

ため注意すること。また、腫瘍の辺縁を十分カバーし、外部から内部に進みながら薬液を分散投与するような投与方法が好ましい。

#### 4). 予想される有害事象について

1. 投与部位の状態: 注射部位反応（紅斑、疼痛、熱感、圧痛、腫脹、発赤、搔痒、硬結、水疱、浮腫、出血）が起こる可能性がある。
2. 一般・全身障害: 倦怠感、悪寒、疼痛が起こる可能性がある。  
また、感染症・腫瘍熱などが鑑別できる GEN0101 の薬理作用の一つとして発熱が起こる可能性がある。
3. 血液およびリンパ系障害: 血液およびリンパ系障害,その他（脾臓の一過性腫脹）が見られる可能性がある。
4. 臨床検査: 貧血、白血球減少、好中球数減少、リンパ球数減少、AST 増加、ALT 増加、フィブリノゲン減少、ハプトグロビン減少、ヘモグロビン増加、血小板減少、  
臨床検査,その他（AST 減少、ALT 減少、白血球分画増加・減少、赤血球増加・減少、ヘモグロビン減少、ヘマトクリット増加・減少、フィブリノゲン増加、ハプトグロビン増加、血小板増加、PT 一時的な延長、APTT 一時的な延長、CRP 増加、コレステロール高値、FDP 増加、細菌陽性、硝子円柱陽性、単球数増加、尿蛋白陽性、扁平上皮陽性）が起こる可能性がある。
5. 代謝および栄養障害: 高カリウム血症、低カリウム血症、食欲不振、  
低アルブミン血症、低ナトリウム血症が起こる可能性がある。
6. 腎および尿路障害: 血尿、ヘモグロビン尿が見られる可能性がある。
7. 免疫系障害: GEN0101 に対するアレルギー反応が見られる可能性がある。
8. 神経系障害: 頭痛が起こる可能性がある。
9. 皮膚及び皮下組織障害: 皮膚乾燥が起こる可能性がある。

※赤字で示した有害事象が臨床研究で多く発現した有害事象である。いずれも一過性であり、注射部位反応は数日間で改善し、発熱は解熱剤を使用せず翌日には回復、又はロキソニン（NSAIDs）を投与し同様に翌日には回復した。好中球数減少については G-CSF 投与せずに回復した。

#### 5). 休薬期間について

臨床研究では 4 週間の休薬期間を設定したが、より短い方が抗腫瘍効果があることが確認されたため、本治験では休薬期間を 2 週間とした。

#### 6). 各分担施設における役割について

以下の体制を整えている。

- ・ 治験実施医療機関：大阪大学、国立がん研究センター中央病院、静岡がんセンター
- ・ 共同研究施設：高知大学、山梨大学、東京医科歯科大学、福島県立医科大学、  
防衛医科大学校
- ・ 作用機序解明：慶應義塾大学、iFrec 実験免疫学
- ・ 治験薬提供者：ジェノメディア株式会社
- ・ 治験の支援：未来医療センター（一部、外部の CRO）

### 【質疑】

Q1：選択基準 3.原発巣は問わないか。

A1：問わない。

Q2：選択基準 5.で総和が 10mm 以上とあるが、上限は問わないか。

A2：問わない。ただし、測定可能な病変を選択基準としており、腫瘍の数値が多いと腫瘍が融合して測定不能となる可能性があるため、可能な限り独立した病変を投与病変にして欲しい。

Q3：除外基準 1.単発性の脳転移はエントリー可能か。

A3：術後安定していればエントリー可能。ステロイド剤の全身投与が行われている場合は除外としているが、経口プレドニゾロン 10mg/day 以下を長期投与している場合はエントリー可能としている。

Q4：皮下投与とあったが、皮内投与は可能か。また皮下投与と皮内投与で差はあるか。直接腫瘍を攻撃したいのなら皮内投与のほうがよいと感じた。Fat Necrosis がでる恐れがあるのではないか。

A4：皮内投与も可能とする。本治験では低用量で病変 1 か所 1mL、高用量で病変 1 か所 2mL 投与することとなるため、皮内には全て入りきらない可能性が高い。余った治験薬を皮下投与と考える。非臨床の皮下投与で Fat Necrosis 発現していない。

Q5：腫瘍の撮影方法だが、ノギスは光ってしまう可能性があるため、ノギスを記載した紙のシールほうが良い。紙には被験者番号や、病巣ナンバー、日付等記載できるメモ付のものが使いやすい。

A5：撮影に関するマニュアルに盛り込むよう検討する。

Q6：予想される有害事象で脾臓の一過性腫脹があるが、リンパ節は腫脹しないか。また、この予想される有害事象をフォローするのに触診のみでよいか。検査を実施しやすいエコー検査で確認してもよいか。

A6：臨床研究では、リンパ節腫脹は発現しなかった。エコー検査は RECIST の評価モダリティに含まれていないため、本治験の検査項目に入れていないが、通常診療でエコー検査を使用して確認いただくこととなる。ただし、CRF にはエコー検査結果は反映されない。

Q7：スクリーニングは検査項目の結果を受領するまで3週間を要するか。

A7：3週間程要する。

Q8：スクリーニング期間は入院必須となるか。

A8：必須とはならない。

Q9：投与の経過の中で一時的にステロイド剤を使用することは不可とされているか。状態が良くない被験者がエントリーした場合、ステロイド剤の一時使用を許容しておかないとドロップアウトしてしまう可能性が高いため、検討頂きたい。

A9：除外基準に抵触するためステロイド剤は使用不可としている。今後の低用量のステロイド剤の使用を検討する。

### 3. 非臨床試験結果について(ジェノミディア 中島)

#### 1). 非臨床試験結果の概要

##### ① 用法用量設定試験

- ・ 皮内に腫瘍を移植したモデルにおいて、2週間に3回、6回投与で抗腫瘍効果が認められた。6回投与がより抗腫瘍効果が得られたため、本治験で2週間6回投与を採用した。
- ・ 皮下投与においても統計学的に有意な抗腫瘍効果が認められた。

##### ② 信頼性基準試験

- ・ 皮下投与においても統計学的に有意な抗腫瘍効果が認められた。

##### ③ 安全性試験：一般毒性

- ・ 単回皮下投与：ラット、カニクイザルにて、ヒト60kg換算でそれぞれ最高投与量1,200,000 mNAU、600,000 mNAUまでの用量を投与した結果、毒性学的に重篤な影響のないことを確認している。
- ・ 反復投与：ラット、カニクイザルにて、ヒト60kg換算でそれぞれ最高投与量300,000 mNAUと600,000 mNAU(2週間)まで確認し、毒性学的に重篤な影響のないことを確認している。

#### ④ 局所刺激性試験

- ・ 対面助言後 PMDA より追加試験が求められた試験である。カニクイザルを用いて 2 週間間歇皮下投与試験を実施した。投与終了 2 週間後、6 週間後に剖検を行い、投与後 2 週間後で投与部位の炎症が回復し、免疫が維持されていた。また、臨床研究では 4 週間の休薬期間を設定していたが、免疫が低下してしまうことが確認されたため、本治験では休薬期間 2 週間を採用している。

#### ⑤ 製剤の安定性

- ・ 冷蔵保存で 21 か月まで安定であることを確認している。調液は室温で実施可とし、治験薬調製後は 6 時間以内に投与いただく。

#### 4. 治験のタイムライン(目標)について(未来医療センター 斎藤)

- ・ 大阪大学  
2013 年 11 月 26 日の阪大治験審査委員会での審議結果により、治験届を提出する。ただし、PMDA の年内の治験届提出期限が 12 月 6 日となるため、治験届提出が 2014 年 1 月となる可能性がある。本治験は 30 日調査対象となる治験薬となるため、治験開始は早くても 2014 年 1 月となる予定。
- ・ 国立がん研究センター及び静岡がんセンター  
各施設で治験審査委員会に治験実施申請し、承認を得た後、治験をスタートする。治験届提出状況については、本治験の開発受託機関である POC クリニカルリサーチ株式会社の担当者から連絡をする。

#### 5. 総合質疑

特になし

6. John Wayne Cancer Institute, USA     Dave S. Hoon  
「Update of Key Melanoma ImmunoTherapies USA」

7. University of California Irvine     Anand K Ganesan  
「From Systems Biology to Melanoma Drugs-The Story of RhoJ and Pak1」

以上

## V.研究成果の刊行に関する一覧表



書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
片山一朗	V 蕁麻疹 蕁麻疹の類症 71.アトピー性皮膚炎と蕁麻疹の関係	総編集:古江増隆、専門編集:秀 道広	診る・わかる・治す 皮膚科臨床アセット 16 蕁麻疹・血管性浮腫 パーフェクトマスター	中山書店	東京	2013	306-11
片山一朗	第II編 炎症性皮膚疾患 第12章 膠原病とその類症	監修:富田靖、編集:橋本 隆、岩月啓氏、照井正	標準皮膚科学	医学書院	東京	2013	158-85
片山一朗	第VI編 様々な皮膚疾患と関連領域 第33章 粘膜疹とその関連疾患	監修:富田靖、編集:橋本 隆、岩月啓氏、照井正	標準皮膚科学	医学書院	東京	2013	547-57
片山一朗	11. 掌蹠膿疱症 第1章 各疾患の診断と治療 I.湿疹と類症	編集:横関博雄、片山一朗	高齢者によくみられる皮膚疾患アトラスー鑑別と治療のポイントー	医薬ジャーナル	大阪	2013	50-4
片山一朗	第2章 15.アトピー性皮膚炎	編集:宮坂信之	ポケットサイズのステロイド診療マニュアル	新興医学出版社	東京	2013	148-53
片山一朗	第1章 ポジショニング・定義 3.湿疹・皮膚炎 Q5. 外用ステロイドがかゆみに効く機序は?	編集:宮地良樹	抗ヒスタミン薬～達人の処方箋Rx～	メディカルレビュー社	大阪	2013	74-5
片山一朗	皮膚疾患 湿疹・皮膚炎 A.アトピー性皮膚炎	総編集:永井良三・大田健	疾患・症状別 今日の治療と看護 改訂第3版	南江堂	東京	2013	1066-70
片山一朗・金田眞理	3【老年病の診断・治療。予防】皮膚	監修:荻原俊男	予防とつきあい方シリーズ【老年病・認知症】～長寿の秘訣～	メデカルレビュー社	大阪	2013	191-6

<u>片山一朗</u>	I 章 薬物療法 A.外用療法6) ビ タミンD3 外用 薬 コラム;尋常 性白斑に対する ビタミンD3 外用 療法	ゲスト編 集:五十嵐 敦之 常任 編集:宮地 良樹 清水 宏	1 冊でわかる 最新皮膚科治療	文光堂	東京	2013	38-9
<u>片山一朗</u>	第3章 職業性皮 膚疾患	監修:日本 職業・環境 アレルギー 学会ガイド ライン専門 部会	職業性アレルギー 一疾患診療ガイ ドライン2013	協和企画	東京	2013	63-109
<u>片山一朗</u>	I 紅斑症1.紅斑の 分類と臨床検 査・治療指針、 22.Sjögren 症候 群の感情紅斑の 病態・診断・治療、 II 痒疹群 43.慢性 痒疹の治療(4) ー活性型ビタミ ンD <sub>3</sub> 療法ー	総編集:古 江増隆、専 門編集:横 関博雄	診る・わかる・ 治す皮膚科臨床 アセット 18 紅 斑と痒疹 病 態・治療の新た な展開	中山書店	東京	2013	2~6、 118~123、 225~230
<u>山崎直也</u>	10.薬物療法の副 作用への対応 分子標的薬の皮 膚障害への対応 策を教えてください	編著:弦間 昭彦	肺癌診療 Q&A 一つ上を行く診 療の実践 2版	中外医学 社	東京	2013	410-3.
<u>山崎直也</u>	皮膚障害, 手足症 候群, 脱毛	編集:木下 貴之、戸井 雅和	オンコロジーク リニカルガイド 乳癌薬物療法	南山堂	東京	2013	366-73

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hanafusa T, Igawa K, Kotobuki Y, Kitaba S, Tani M, <u>Katayama I</u>	Systemic lymphadenopathy with systemic sclerosis and Sjögren's syndrome: a case report.	J Dermatol.	40(2)	124-25	2013
Kijima A, Murota H, Takahashi A, Arase N, Yang L, Nishioka M, Yamaoka T, Kitaba S, Yamauchi-Takahara K, <u>Katayama I</u>	Prevalence and impact of past history of food allergy in atopic dermatitis.	Allergol Int.	62(1)	105-12	2013
Tanaka A, Tanemura A, Tsuji C, <u>Katayama I</u> , Masuzawa M, Nakashima Y	Epithelioid angiosarcoma of the skin with spontaneous regression.	J Dermatol.	40(3)	215-7	2013
Murota H, <u>Katayama I</u>	Reply: To PMID 22770266	J Allergy Clin Immunol.	131(3)	928-9	2013
Terao M, Itoi S, Murota H, <u>Katayama I</u> .	Expression profiles of cortisol-inactivating enzyme, 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase-2, in human epidermal tumors and its role in keratinocyte proliferation.	Exp Dermatol	22(2)	98-101	2013
Oiso N, Suzuki T, <u>Katayama I</u> (17 番中 17 番目)	Guidelines for the diagnosis and treatment of vitiligo in Japan.	J Dermatol.	40(5)	344-54	2013
Murakami Y, Wataya-Kaneda M, Tanaka M, <u>Katayama I</u> .	Case of tuberous sclerosis complex complicated by mosaic localized neurofibromatosis type 1	J Dermatol	40(5)	413-14	2013

Hanafusa T, Matsui S, Murota H, Tani M, Igawa K, <u>Katayama I.</u>	Increased frequency of skin-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells as a diagnostic indicator of severe atopic dermatitis from cutaneous T cell lymphoma	Clin Exp Immunol	172(3)	507-12	2013
Nakajima K, Terao M, <u>Katayama I</u> (16人中14番目)	Barrier abnormality due to ceramide deficiency leads to psoriasiform inflammation in a mouse model.	J Invest Dermatol.	133(11)	2555-65	2013
Wataya-Kaneda M, Tanaka M, Hamasaki T, <u>Katayama I.</u>	Trends in the prevalence complex manifestations: an epidemiological study of 166 Japanese patients.	PLoS One.	8(5)	e63910	2013
Tanaka A, Nakano M, Tani M, Kira M, <u>Katayama I.</u> Nakagawa J, Tahara K Koh S, Goto S, Takahashi R.	Adult case of Stevens-Johnson syndrome possibly induced by Chlamydomyces pneumonia infection with severe involvement of bronchial epithelium resulting in constructive respiratory disorder.	J Dermatol.	40(6)	492-4	2013
Hirobe S, Azukizawa H, Matsuo K, Zhai Y, Quan YS, Kamiyama F, Suzuki H, <u>Katayama I.</u> Okada N, Nakagawa S.	Development and clinical study of a self-dissolving microneedle patch for transcutaneous immunization device.	Pharm Res	30(10)	2664-74	2013
Arase N, Wataya-Kaneda M, Oiso N, Arase H, <u>Katayama I.</u>	CD1a-positive familial cutaneous mastocytosis without germ-line or somatic mutations in c-kit.	Br J Dermatol.	169(1)	201-4	2013